

DIN EN 15768

ICS 13.060.20; 67.250; 71.040.50

Einsprüche bis 2012-09-02

Entwurf

**Identifizierung mittels GC-MS von durch Wasser herausgewaschenen organischen Substanzen aus Materialien für den Kontakt mit Trinkwasser;
Deutsche Fassung prEN 15768:2012**

The GC-MS identification of water leachable organic substances from materials in contact with water intended for human consumption;
German version prEN 15768:2012

Identification à l'aide GC-MS des substances organiques délavées des matériaux destinés au contact avec l'eau à la consommation humaine;
Version allemande prEN 15768:2012

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2012-07-02 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise als Datei per E-Mail an naw@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 42 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 15768:2012) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 164 „Wasserversorgung“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) erarbeitet.

Für die deutsche Mitarbeiter ist der Ausschuss NA 119-04-14 AA „Werkstoffe und Bauteile im Kontakt mit Trinkwasser (CEN/TC 164/WG 3)“ im Normenausschuss Wasserwesen (NAW) verantwortlich.

Identifizierung mittels GC-MS von durch Wasser herausgewaschenen organischen Stoffen aus Materialien für den Kontakt mit Trinkwasser

Identification à l'aide du GC-MS des substances organiques délavées des matériaux destinés au contact avec l'eau à la consommation humaine

The GC-MS identification of water leachable organic substances from materials in contact with water intended for human consumption

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

STD Version 2.4e - RC2

Inhalt

Seite

Vorwort	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Grundlagen des Verfahrens.....	8
5 Reagenzien	9
5.1 Allgemeines	9
5.2 Erforderliche Reagenzien	9
6 Geräte und Apparate	12
7 Aufbewahrung von Migrationswässern sowie Blind- und Migrationsblindproben	13
8 Analyseverfahren.....	13
8.1 Extraktionsverfahren	13
8.2 GC-MS-Analyse	14
8.2.1 Sicherheitsvorkehrungen	14
8.2.2 Arbeitsparameter der Massenspektrometer	15
8.2.3 Einrichtung des Massenspektrometers und des Datensystems	15
8.2.4 Anfangseinstellung und Massenkali- brierung des Massenspektrometers	15
8.3 Einrichtung des GC-MS-Systems.....	15
8.4 Betriebsbedingungen der GC-MS für die Analyse von Lösemittlextrakten.....	16
8.5 Darstellung der erforderlichen Angaben aus dem GC-MS-Datensystem	16
9 Verfahren der Qualitätssicherung (QA) und Qualitätskontrolle (QC).....	17
9.1 Massenkali- brierung des Massenspektrometers	17
9.2 Die Funktion des GC-MS-Systems	17
9.3 Die Eignung des Verfahrens.....	17
9.4 Messunsicherheit des Verfahrens	17
10 Darstellung der Ergebnisse	18
10.1 Semi-quantitative Konzentrationsabschätzung der erfassten Stoffe	18
10.2 Identifizierung der erfassten Stoffe	18
10.3 Auswertung der Ergebnisse	19
11 Prüfbericht.....	20
11.1 Allgemeines	20
11.2 Prüfergebnisse.....	20
Anhang A (normativ) Zusätzliche Einzelheiten zum Verfahren.....	22
A.1 Eignungsprüfung des Apparats zur Aufkonzentrierung der Lösemittlextrakte.....	22
A.2 Verfahren zur Berechnung der Wiederfindungsraten der internen Standards	22
A.2.1 Einleitung.....	22
A.2.2 Verfahren zur Berechnung der Wiederfindungsraten der internen Standards	22
A.2.3 Verfahren zur Berechnung der Wiederfindungsraten der internen Standards (Alternativverfahren)	23
A.3 Standardlösungen für die Prüfung der GC-Säulenfunktion	24
A.3.1 Einleitung.....	24
A.3.2 Reagenzien für die GC-MS-Leistungsprüfung	24
Anhang B (informativ) Darlegung des allgemeinen Untersuchungsansatzes für die Identifizierung der erfassten Substanzen	31

B.1	Allgemeiner Untersuchungsansatz	31
B.1.1	Allgemeines	31
B.1.2	GC-MS-Prüflösung	31
B.1.3	Typisches Eluat	32
B.1.4	Identifizierung der Substanzen	32
B.1.5	Überladung	33
B.1.6	Vorgeschlagene Strategie zur Erleichterung der Identifizierung von Substanzen in Eluaten	33
B.2	Auflösung von ko-eluierenden Peaks	33
B.3	Vorgehensweise, wenn die Hintergrundsubtraktion nicht hilft	34
B.4	Vorläufige Identifizierung einer Substanz mittels Siedepunkten und Retentionsindices	34
B.5	Bibliothekssuchergebnisse und Identifizierung „unbekannter“ Substanzen	35
B.6	Auswertung des Massenspektrums	36
B.7	Angabe des Vertrauens in eine Identifizierung einer Substanz	36
B.8	Wie sind alternative Identifizierungen anzugeben und wann ist dies angemessen?	37
B.9	Vorgehensweise, wenn die Bibliothekssuche keine vertretbare Identifizierung zuordnet	37
Anhang C (informativ)	Anleitung für die Auswertung der Ergebnisse	38
C.1	Einleitung	38
C.2	Anfangsbeurteilung des Prüfberichts	38
C.3	Beurteilung der Analysenergebnisse	39
Literaturhinweise		40

Vorwort

Dieses Dokument (prEN 15768:2012) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 164 „Wasserversorgung“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Die Erarbeitung dieser CEN-Norm durch die CEN/TC 164/WG 3/AHG 7 erfolgte auf der Grundlage des co-normativen Forschungsvorhabens EVK1-CT 2000-00052. Die Arbeit wurde von der DG Enterprise and Industry finanziert (Fördervereinbarung S12.403892).

Diese Norm beschreibt nur Methoden zur Identifizierung und sollte deshalb weder als Spezifikation herangezogen, noch sollte auf sie Bezug genommen werden.

Verweisungen auf diese Norm sollten darauf aufmerksam machen, dass die zur Identifizierung gewählten Methoden in Übereinstimmung mit EN 15768 sind.

Einleitung

Organische Stoffe, die von Produkten, die solche Stoffe enthalten, bei Trinkwasserkontakt in das Trinkwasser übergehen, können Gesundheitsrisiken bei den Verbrauchern verursachen. Die möglichen gesundheitlichen Einflüsse dieser Chemikalien werden in drei Stufen wie folgt beurteilt:

- a) Herstellung von Migrationswässern durch Exponieren einer bestimmten Menge des Materials unter definierten Bedingungen;
- b) Analyse der Migrationswässer;
- c) toxikologische Beurteilung der Art und Konzentration der gefundenen Stoffe.

Die Analyse der in den Migrationswässern vorhandenen organischen Stoffen kann zwei unterschiedliche Arten analytischer Methoden beinhalten:

- a) eine Screening-Methode, die es erlaubt, eine Vielfalt von Stoffen zu ermitteln und eine semi-quantitative Beurteilung hinsichtlich deren Konzentration vorzunehmen;
- b) exakte quantitative Bestimmungsmethoden für bestimmte Einzelstoffe, deren Anwesenheit durch die Materialrezeptur bekannt ist.

Diese Norm beschreibt die analytischen Verfahren auf Basis von Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS), die eingesetzt werden, um die Migrationswässer von Fertigprodukten, wie Rohre, Überzüge, Membranen usw., auf ihre organischen Stoffen hin zu untersuchen. Dieses Verfahren ist anwendbar auf Migrationswässer von allen Produkten, die bei einem möglichen Trinkwasserkontakt organische Substanzen an das Wasser abgeben können und die Gegenstand eines Zulassungsantrages bei einer nationalen Behörde sind. Es kann eines von mehreren Verfahren darstellen, die für den gesamten Zulassungsvorgang erforderlich sind. Das Verfahren darf auch als Teil eines Auditierungsverfahrens angewandt werden. Das Verfahren liefert keine genauen quantitativen Ergebnisse; dafür sind andere Verfahren für die genaue Bestimmung von bestimmten Einzelstoffen anzuwenden.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm beschreibt eine Methode zur Identifizierung organischer Substanzen, die der GC-MS-Analyse mit den beschriebenen Verfahren zugänglich sind und von Produkten in Trinkwasser migrieren können. Ein Verfahren zur semi-quantitativen Bestimmung der Konzentrationen der ermittelten organischen Stoffen wird ebenfalls angegeben.

ANMERKUNG Das Verfahren zur Herstellung von Migrationswässern ist in einzelnen Europäischen Normen festgelegt, die nachfolgend genannt sind.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN 12873-1, *Einfluss von Materialien auf Trinkwasser — Einfluss infolge der Migration — Teil 1: Prüfverfahren für nichtmetallische und nicht zementgebundene fabrikmäßig hergestellte Produkte*

EN 12873-2, *Einfluss von Materialien auf Trinkwasser — Einfluss infolge der Migration — Teil 2: Prüfverfahren für vor Ort aufgebrachte nicht metallische und nicht zementgebundene Materialien*

EN 12873-3, *Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen Gebrauch — Einfluss infolge der Migration — Teil 3: Prüfverfahren für Ionenaustauscher und Adsorberharze*

EN 12873-4, *Einfluss von Materialien auf Wasser für den menschlichen Gebrauch — Einfluss infolge der Migration — Teil 4: Prüfverfahren für Membranen für die Wasserbehandlung*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

u

Einheit der Atommasse, definiert als ein Zwölftel der Masse eines einzelnen ^{12}C -Atoms in der Gasphase (d. h. ohne Bindungen) in seinem Ausgangszustand

3.2

Assymetriefaktor

A_s

Maß der Peakform eines gaschromatischen Peaks.

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Asymmetriefaktor (A_s) kann nach Gleichung (1) hergeleitet werden:

$$A_s = \frac{a + b}{2b} \quad (1)$$

Dabei ist

a der an der vorderen Hälfte des Peaks, bei 10 % der maximalen Peakhöhe zwischen dem ansteigenden Kurvenverlauf und der Vertikalen von der Peakspitze zur Basislinie gemessene Abstand;

b der entsprechende Abstand auf der absteigenden Hälfte der Messkurve.

Anmerkung 2 zum Begriff: Bei manchen GC-MS-Herstellern gibt es automatische Auswerteprogramme für die Ermittlung der Peakasymmetrie. Die für die Messung angewandten Kriterien sind zu kontrollieren, da diese üblicherweise bei 5 % der Peakhöhe die Berechnungen ausführen.

3.3

Elektronenstoßionisierung

Ionisierung durch einen Elektronenstrahl

3.4

GC-MS

analytisches Verfahren, das einen Gaschromatographen (GC) in Verbindung mit einem Massenspektrometer (MS) nutzt

3.5

GC-MS-Übersichtsanalyse

Erlangung einer Serie von Massenspektren (bis zu mehreren Tausend) im Zuge eines gaschromatischen Laufes mittels zyklischer Scannings über einen weiten m/z -Bereich

3.6

Injektionsstandard

organischer Stoff, der dem letzten Extrakt vor der eigentlichen Analyse zugesetzt wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Ein Injektionsstandard wird zugesetzt, um die Wiederfindungsrate für die internen Standards berechnen zu können. Damit soll die Möglichkeit gegeben werden, die GC-MS-Response für den Extrakt und die GC-MS-Standards abzugleichen.

3.7

interne Standards

organische Substanzen, die vor Beginn der eigentlichen Analyse dem Migrationswasser in bekannter Konzentration zugesetzt werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Interne Standards werden aus folgenden Gründen zugesetzt:

a) um zu zeigen, dass das Verfahren erfolgreich durchgeführt wurde, und

b) um eine Referenz für andere Substanzen, die quantitativ ermittelt werden sollen, zu haben.

Ideal ist es, wenn die internen Standards nicht in dem zu untersuchenden Extrakt vorhanden sind. Deshalb werden mit Isotopen markierte Standards eingesetzt.

3.8

Prüfwasser

Wasser zur Herstellung des Migrationswassers, wie in EN 12873-1, EN 12873-2, EN 12873-3 oder EN 12873-4 festgelegt, in Abhängigkeit vom zu prüfenden Material

3.9

Blindprobe

Wasserprobe mit vernachlässigbarem Gehalt an Verunreinigungen, der interne Standards (3.7) zugesetzt sind und dann auf dieselbe Weise wie das Migrationswasser analysiert wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Blindproben werden benutzt, um mögliche Verunreinigungen der Migrationswässer oder Lösemittelextrakte zu überprüfen, die im Labor im Laufe des Verfahrens eingetreten sein könnten.

3.10

Migrationswasser

wässrige Lösung nach Exposition von Versuchswasser mit Prüfmaterial unter festgelegten Prüfbedingungen

3.11

Migrationsblindprobe

wässrige Lösung, die beim Kontakt von Versuchswasser mit Behältern und Gefäßen, die identisch mit denen zur Herstellung des Migrationswassers sind, entsteht, wenn keine Prüfmaterialien eingesetzt sind

Anmerkung 1 zum Begriff: Migrationsblindproben werden genutzt, um mögliche Verunreinigungen der Migrationswässer festzustellen, die während der Durchführung der Migrationstests auftreten können. So können z. B. Stoffe aus Behältern oder Gefäßen, die mit Versuchswasser gefüllt sind, migrieren oder von Substanzen aus der Luft in das Wasser übergehen, wenn flüchtige Substanzen in der Laboratmosphäre vorhanden sind. Weitere Einzelheiten geben die Europäischen Normen, in denen die Herstellung von Migrationswässern beschrieben wird.

3.12

massenspektrometrische Auflösung

Maß der Fähigkeit eines Massenspektrometers, zwei Massepeaks bei aufeinander folgenden Masse-/Ladungs- (m/z) -Werten konkret zu unterscheiden.

Anmerkung 1 zum Begriff: Für $z = 1$ wird dies im Allgemeinen bezeichnet mit $m_2/(m_2 - m_1)$, wobei m_2 den höheren und m_1 den niedrigeren m/z -Wert hat.

Anmerkung 2 zum Begriff: Eine Ausrüstung des Massenspektrometers mit einer Auflösung von 650 ist ausreichend und gibt die korrekten spektralen Massepeaks bei m/z 649 und m/z 650 wieder. Obwohl die massenspektrometrische Auflösung bei einem Massenspektrometer mit einem Magnetfeld über den gesamten abgefragten Massebereich konstant bleibt, wird ein Quadrierungsmassenspektrometer üblicherweise so betrieben, dass die erreichte Masseneinheitsauflösung über den abgefragten Massebereich erreicht wird (z. B. bei $m/z = 200$ ist die Auflösung 200, während man bei $m/z = 500$ eine Auflösung von 500 wählt).

3.13

m/z

Masse (m) zu Ladungs(z)-Verhältnis eines Ions

Anmerkung 1 zum Begriff: Da die meisten Ionen, die durch Elektronenstrahlionisierung entstehen, einfach geladen sind, entspricht das Verhältnis üblicherweise der Masse des Ions. Jedoch kann ein Ion ausnahmsweise mehrere Ladungen haben.

3.14

Lösemittel-extrakt

Lösung, die Stoffe enthält, die durch Extraktion aus den Migrationswässern gewonnen wurden (in diesem Falle Dichlormethan)

3.15

Gesamtionenstrom

TIC

Summe aller einzelnen Ionenströme der jeweiligen Ionen, die zu einem einzelnen Massenspektrum führen

3.16

TIC-Chromatogramm

graphische Darstellung des TIC über die Zeit

3.17

linearer Retentionsindex

$$\text{linearer Retentionsindex} = n \cdot 100 + 100 \frac{RT_x - RT_n}{RT_{n+1} - RT_n}$$

Dabei ist

n die Zahl der Kohlenstoffatome im n-Alkan vor dem untersuchten Stoff;

RT_n die Retentionszeit des n-Alkans, in min;

RT_{n+1} die Retentionszeit des darauffolgenden n-Alkans, in min;

RT_x die Retentionszeit des untersuchten Stoffes, in min.

4 Grundlagen des Verfahrens

Eine Mischung mit Isotopen markierter interner Standards wird zu jedem Migrationswasser zugegeben, direkt bevor es zur Untersuchung mit Dichlormethan extrahiert wird. Nach der Extraktion wird der Lösemittel-extrakt aufkonzentriert und nach Zugabe eines Injektionsstandards mittels GC-MS analysiert. Dabei wird die Identität aller organischen Substanzen bestimmt, die über einem vorgegebenen Schwellenwert vorhanden sein können.

Das Massenspektrometer wird mittels Elektronenstrahlionisierung in einem sich wiederholenden Gesamtübersichtsmodus betrieben und die sich ergebenden Massenspektren werden aufgezeichnet und in der Datenbank des GC-MS-Systems gespeichert.

Wo immer möglich, wird jeder über dem Schwellenwert ermittelte Stoff identifiziert und unter Berücksichtigung der Wirkung seines TIC aus den Ergebnissen der internen Standards semi-quantitativ bestimmt..

ANMERKUNG Die Verfahren, organische Substanzen über ihre Massenspektren zu identifizieren, sind im Anhang B aufgeführt.

5 Reagenzien

5.1 Allgemeines

Sofern nichts anderes festgelegt wurde, dürfen nur Reagenzien „zur Analyse“ verwendet werden. Alle Reagenzien müssen von ausreichender Reinheit sein, um sicherzustellen, dass sie die Ergebnisse der GC-MS-Analyse nicht beeinträchtigen.

ANMERKUNG Verunreinigungen können aus verschiedenen Quellen hervorgehen, wie z. B. der Laborluft, Glasgeräten, Kunststoffen oder Gummimaterialien. Der Einsatz von Migrationsblindproben und Blindproben hilft bei der Entdeckung und Ermittlung der Ursachen für eine Verunreinigung und bei der Korrektur der Ergebnisse im Zusammenhang mit Auswirkungen von Verunreinigungen.

5.2 Erforderliche Reagenzien

5.2.1 Reagenzwasser mit einer Leitfähigkeit $< 2 \text{ mS/m}$, einem Gesamtkohlenstoffgehalt von $< 0,2 \text{ mg/l}$ und frei von organischen Verunreinigungen, die die GC-MS-Untersuchung der Extrakte beeinflussen können. Geeignete Wässer können mittels Umkehrosmose, Deionisierung oder Destillation hergestellt werden.

5.2.2 Salzsäure, konz. (30 % m/V)

5.2.3 Salzsäurelösung, hergestellt wie folgt:

Es werden $(0,5 \pm 0,01) \text{ l}$ konzentrierte Salzsäure (5.2.2) langsam zu $(0,5 \pm 0,01) \text{ l}$ Reagenzwasser (5.2.1) hinzugegeben.

Die Lösung sollte maximal bis einen Monat in Gebrauch sein.

ANMERKUNG Bei der Herstellung ist wegen der Wärmeentwicklung Vorsicht geboten.

5.2.4 Schwefelsäure, konz. (98 % m/V)

5.2.5 Schwefelsäurelösung (0,5 mol/l), hergestellt wie folgt:

Es werden $(14,0 \pm 0,5) \text{ ml}$ Schwefelsäure (5.2.4) langsam zu $(300 \pm 5) \text{ ml}$ Reagenzwasser (5.2.1) hinzugegeben und mit Reagenzwasser bis $(500 \pm 5) \text{ ml}$ aufgefüllt.

Die Lösung sollte maximal bis einen Monat in Gebrauch sein.

ANMERKUNG Bei der Herstellung ist wegen der Wärmeentwicklung Vorsicht geboten.

5.2.6 Natriumhydroxidlösung (0,5 mol/l), hergestellt wie folgt:

Es werden $(20 \pm 0,1) \text{ g}$ Natriumhydroxid-Linsen in Reagenzwasser (5.2.1) aufgelöst und mit Reagenzwasser bis 1 l aufgefüllt.

Die Lösung sollte maximal bis einen Monat in Gebrauch sein.

ANMERKUNG Bei der Herstellung ist wegen der Wärmeentwicklung Vorsicht geboten.

5.2.7 Dichlormethan, an Glas destilliert, die Chargen sollten solange nicht zum Einsatz gelangen, bis nicht nachgewiesen wurde, dass sie frei von Verunreinigungen sind, siehe ANMERKUNG 2.

ANMERKUNG 1 Andere Qualitäten können ebenfalls geeignet sein. Es muss aber nachgewiesen sein, dass jede vorhandene Verunreinigung nicht für die Ermittlung der interessierenden Stoffe oder der internen Standards störend ist oder zu einer anderen unerwünschten Verunreinigung führt, siehe ANMERKUNG 2.

ANMERKUNG 2 Grundsätzlich kann jeder Peak im Lösemittel, nachdem die Verunreinigungen mittels Eindampfen konzentriert wurden (200 ml des Lösemittels werden auf 500 ml reduziert), mit einer geschätzten Konzentration von mehr als 1 µg/l wahrscheinlich das Verfahren störend beeinflussen.

5.2.8 Aceton, an Glas destilliert, die Chargen sollten solange nicht zum Einsatz gelangen, bis nicht nachgewiesen wurde, dass sie frei von Verunreinigungen sind, siehe ANMERKUNG 2.

ANMERKUNG 1 Andere Qualitäten können ebenfalls geeignet sein. Es muss aber nachgewiesen sein, dass jede vorhandene Verunreinigung nicht für die Ermittlung der interessierenden Stoffe oder der internen Standards störend ist oder zu einer anderen unerwünschten Verunreinigung führt.

ANMERKUNG 2 Grundsätzlich kann jeder Peak im Lösemittel, nachdem die Verunreinigungen mittels Eindampfen konzentriert wurden (200 ml des Lösemittels werden auf 500 ml reduziert), mit einer geschätzten Konzentration von mehr als 1 µg/l wahrscheinlich das Verfahren störend beeinflussen.

5.2.9 Ascorbinsäurelösung, hergestellt wie folgt:

Es werden $(4,0 \pm 0,1)$ g Ascorbinsäure in $(1,0 \pm 0,01)$ l Reagenzwasser aufgelöst. Vor Gebrauch wird die Lösung mit Dichlormethan (2×100 ml) extrahiert, danach ist das Lösemittel zu verwerfen. Die Ascorbinsäurelösung ist in eine geeignete Flasche mit Schraubverschluss zu überführen. Die Lösung sollte maximal bis einen Monat in Gebrauch sein.

5.2.10 Natriumsulfat (wasserfrei), hergestellt wie folgt:

Jegliche organischen Verunreinigungen werden durch Erhitzen auf (500 ± 50) °C über ≥ 4 h entfernt. Die Lagerung der Chemikalie erfolgt derart, dass eine erneute Wasseraufnahme bzw. Rückverunreinigung nicht stattfinden kann.

5.2.11 Interne Standards, es werden folgende isoto­penmarkierte (≥ 98 % D) Substanzen eingesetzt:

- d_6 -Benzol;
- d_{21} -2,6-Di-*t*-butyl-4-methylphenol (d_{21} -BHT);
- d_5 -Chlorbenzol;
- d_{34} -Hexadecan;
- d_8 -Naphthalin;
- d_{10} -Phenanthren;
- d_5 -Phenol;
- d_{62} -Squalan;
- d_{10} -*p*-Xylol.

5.2.12 Interne Standards, Stammlösungen

Die einzelnen Standard-Stammlösungen werden in Aceton (5.2.8) hergestellt:

- d_6 -Benzol $(2,0 \pm 0,05)$ mg/ml;
- d_{21} -BHT $(8,0 \pm 0,20)$ mg/ml;
- d_5 -Chlorbenzol $(2,0 \pm 0,05)$ mg/ml;

- d_{34} -Hexadecan $(1,0 \pm 0,02)$ mg/ml;
- d_8 -Naphthalin $(1,0 \pm 0,02)$ mg/ml;
- d_{10} -Phenanthren $(2,0 \pm 0,05)$ mg/ml;
- d_5 -Phenol $(8,0 \pm 0,20)$ mg/ml;
- d_{10} -p-Xylol $(1,0 \pm 0,02)$ mg/ml.

ANMERKUNG Wegen ihrer Flüchtigkeit ist es schwierig, Standardlösungen von d_6 -Benzol durch Auswiegen herzustellen. Es wird empfohlen, entsprechende Volumina (mittels Mikropipette) an d_6 -Benzol unter Berücksichtigung seiner Dichte (0,950 g/ml) zuzugeben unter die Acetonoberfläche einzuspritzen.

Die Stammlösung für d_{62} -Squalan wird in Dichlormethan (5.2.7) hergestellt.

- d_{62} -Squalan $(8,0 \pm 0,20)$ mg/ml.

Die Stammlösungen sind mindestens zwölf Monate stabil, vorausgesetzt, sie werden im Dunkeln bei $(-18 \pm 5) ^\circ\text{C}$ aufbewahrt.

5.2.13 Interne Standards, Zwischenlösungen

Die Zwischenlösungen der internen Standards sind 10-fache Verdünnungen von jeder einzelnen Standard-Stammlösung, siehe 5.2.12,

Die Zwischenlösungen sind wie folgt herzustellen:

- Es werden $(2,5 \pm 0,025)$ ml d_{62} -Squalan-Stammlösung in einen 25-ml-Messkolben überführt.
- Das Dichlormethan wird mit Stickstoff ausgeblasen, bis es völlig entfernt wurde. Dies kann mittels Verdampfung bis zur Gewichtskonstanz verifiziert werden.
- Danach werden $(2,5 \pm 0,025)$ ml jeder der übrigen acht einzelnen Stammlösungen (5.2.12) in den Messkolben überführt, wobei sicherzustellen ist, dass die Stammlösung des d_6 -Benzols als letzte zugefügt wird, und bis zur Marke mit Aceton (5.2.8) aufgefüllt. Die d_6 -Benzol-Stammlösung wird als letzte zugegeben um zu vermeiden, dass hier mögliche Verdampfungsverluste dieses Standards auftreten.

Die Lösung ist mindestens sechs Monate stabil, vorausgesetzt, sie wird im Dunkeln bei $(-18 \pm 5) ^\circ\text{C}$ aufbewahrt.

5.2.14 Lösung, dotiert mit internen Standards

Die Lösungen, dotiert mit internen Standards, sind 100-fache Verdünnungen von jeder einzelnen Standard-Stammlösung, siehe 5.2.12. Die Lösungen, dotiert mit internen Standards, sind wie folgt herzustellen:

- Es werden $(1,0 \pm 0,01)$ ml der Zwischenlösung für interne Standards (5.2.13) zu $(8 \pm 0,5)$ ml Aceton in ein 10-ml-Messkolben hinzugegeben.
- Es ist mit Aceton bis zur Marke aufzufüllen.
- Diese Lösung ist in einem Gefrierschrank bei $(-18 \pm 5) ^\circ\text{C}$ aufzubewahren. Die Lösung sollte spätestens alle drei Monate erneuert werden, vorausgesetzt, dass es während des Gebrauchs keine Hinweise gibt, dass schon vorher Konzentrationsänderungen der internen Standards stattgefunden haben.

5.2.15 Injektionsstandard

Es wird d_{10} -1-Methylnaphthalin (≥ 98 % D) benutzt.